

Matematyczne modelowanie syntezy estrów cukrowych katalizowanej przez lipazę *Mucor circinelloides* w środowisku niewodnym

Tadeusz Antczak
Alina Krystynowicz
Dariusz Hiler
Stanisław Bielecki
Edward Galas
Instytut Biochemii Technicznej
Politechnika Łódzka
Łódź

1. Wstęp

Estry sacharydów i kwasów tłuszczowych jako substancje powierzchniowo czynne są szeroko stosowane w przemyśle farmaceutycznym, kosmetycznym, petrochemicznym i spożywczym. Ich wartość użytkową podnosi niska toksyczność i biodegradowalność. Stwierdzono ponadto, że monoestry glukozy, fruktozy i sorbitolu wykazują właściwości antynowotworowe oraz inhibują wzrost roślin. Obecnie badania nad enzymatyczną syntezą estrów cukrowych są bardzo prężną i rozwijającą się dziedziną biotechnologii. Należy oczekiwać, że w ciągu najbliższych kilku lat metoda enzymatycznej syntezy tych estrów zostanie wprowadzona do praktyki przemysłowej [1-4].

Zagadnienia dotyczące reakcji enzymatycznych w układach dwufazowych opisano w licznych pracach [5-8]. Wyprowadzony w nich model matematyczny dotyczył środowiska, w którym enzym był rozpuszczony w fazie wodnej, a reakcja estryfikacji przebiegała na granicy faz. W modelu tym nie uwzględniono zmiany objętości wody podczas estryfikacji, jak również przyjmowano wielkość stałej równowagi w fazie organicznej (K_O) za parametr niezależny od objętości fazy wodnej. Stała dwufazowa zgodnie z tym modelem miała następującą postać:

$$K_{DI} = K_O \frac{P_{AC} P_{AL} (1 + P_E A) (1 + P_W A)}{P_E P_W (1 + P_{AC} A) (1 + P_{AL} A)} \quad (1)$$

gdzie: K_O — stała równowagi reakcji w fazie organicznej, P_{AC} , P_{AL} , P_E , P_W — współczynniki podziału faz dla: kwasu, alkoholu, estru i wody. A — współczynnik stosunku objętościowego faz $A = V_O/V_W$, w którym V_O — objętość fazy organicznej, V_W — objętość fazy wodnej.

W naszych poprzednich pracach [9,10] przedstawiliśmy model matematyczny syntezy estrów pierwszorzędowych alkoholi alifatycznych i wyższych kwasów tłuszczowych, katalizowanej przez lipazę *Mucor circinelloides* (według poprzedniego nazewnictwa *Mucor javanicus*), który zastosowaliśmy następnie do symulacji wpływu pojedynczych składników modelu na wydajność reakcji. Uwzględniając zmianę objętości wody podczas syntezy estru oraz stwierdzoną empirycznie zależność stałej równowagi reakcji w fazie organicznej od współczynnika stosunku objętościowego faz, $K_O = F(A)$, równanie stałej dwufazowej zostało udokładnione i doprowadzone do postaci:

$$K_{DI} = K_O(A) \frac{P_{AC}P_{AL} [1 + P_E A + W(1 - P_E)(1 + A)][1 + P_W A + W(1 - P_W)(1 + A)]}{P_E P_W [1 + P_{AC} A + W(1 - P_{AC})(1 + A)][1 + P_{AL} A + W(1 - P_{AL})(1 + A)]} \quad (2)$$

Obecnie model (2) rozwinęliśmy o nowe elementy uwzględniające zmiany zawartości wody w poszczególnych składnikach systemu reakcyjnego. Przyjęliśmy, że zawartość wody w układzie dwufazowym (W_C) można wyrazić równaniem:

$$W_C = V_O[W_O] + V_W[W_W] + X + V_n[W_n] ,$$

w którym:

$V_O[W_O]$ — woda zawarta w fazie organicznej [mol];

$V_W[W_W]$ — woda zawarta w fazie wodnej [mol];

X — woda wydzielona w procesie syntezy, równa ilości moli powstałego estru [mol];

$V_n[W_n]$ — woda zawarta w warstwie wody niezbędnej lipazy [mol].

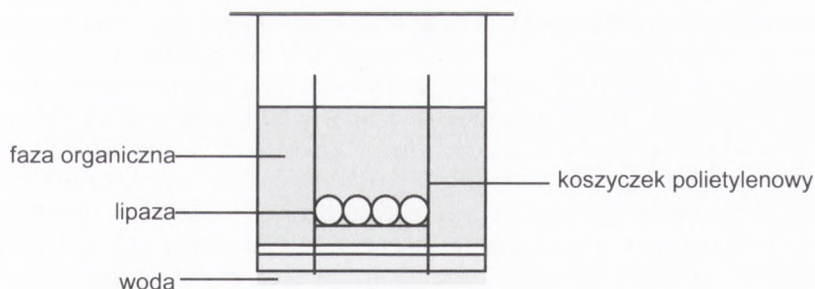
Uwzględniając to, stała dwufazowa układu przyjęła postać:

$$K_{DI} = K_O(A) \frac{P_{AC}P_{AL}[1 + P_E A + W(1 - P_E)(1 + A)][(1 + P_W A)[W_O] + P_W(1 + A)(W + V_n[W_n])]}{P_E P_W [W_O][1 + P_{AC} A + W(1 - P_{AC})(1 + A)][1 + P_{AL} A + W(1 - P_{AL})(1 + A)]} \quad (3)$$

Stałą K_{DI} możemy także wyrazić w postaci równania [10]:

$$K_{DI} = \frac{X(V_O[W_O] + V_W[W_W] + X + V_n[W_n])}{(AC - X)(AL - X)} \quad (4)$$

Przyjmując, że ilości moli kwasu (AC) i alkoholu (AL) wzięte do reakcji są takie same i równe C, po przekształceniu (4) otrzymaliśmy równanie (5),



Rys. 1. Schemat układu reakcyjnego do wyznaczenia funkcji $K_O = F(A)$ w środowisku o różnych współczynnikach stosunku objętościowego faz (A).

którego jedno z rozwiązań po podstawieniu $K_O = F(A)$ i (2) pozwala na prognozowanie wydajności syntezy estrów.

$$X^2(K_{DI} - 1) - X \left\{ \frac{[W_w](P_w A + 1)}{(A + 1)} + [W_n]V_n + 2CK_{DI} \right\} + K_{DI}(C)^2 = 0 \quad (5)$$

W naszych badaniach lipaza w formie immobilizowanej była umieszczana w fazie organicznej, a woda wydzielająca się w reakcji estryfikacji dyfundowała do modelowej fazy wodnej, zwiększając jej objętość. Schemat ten został omówiony szczegółowo w pracy [10].

2. Materiały i metody

2.1. Materiał biologiczny

Lipazę *Mucor circinelloides* w postaci odwodnionego mycelium otrzymywano za pomocą opisaną metody [11,12].

2.2. Wyznaczanie stałych równowagi reakcji

Syntezy kaprylanu i oleinianu sacharozy prowadzono w umieszczonych na wstrząsarce minireaktorach, których schemat zamieszczono na rysunku 1.

Do minireaktora wprowadzano 1 mmol kwasu, 1 mmol cukru, eter di-n-pentyłowy nasycony wodą i wodę w proporcji zgodnej ze współczynnikiem stosunku objętościowego faz (A). Następnie wprowadzano koszyk polietylenowy z 50 mg lipazy, zapewniający dobrą wymianę masy i jednocześnie nie dopuszczający do wnikięcia lipazy w fazę wodną. Całkowita objętość mieszaniny reakcyjnej wynosiła 5 cm^3 . Syntezę estrów prowadzono w ciągu 72 godzin w temperaturze 50°C i obrotach wstrząsarki 250 min^{-1} . Wydajność syntezy estrów, oznaczano metodą miareczkową [13].

Współczynniki podziału dla stosowanych kwasów (P_{AC}) wyznaczono doświadczalnie, również metodą miareczkową. Współczynniki podziału cukrów (P_{AL}) wyliczono na podstawie rozpuszczalności tych substancji w eterze di-n-pentylowym i wodzie, które zbadano za pomocą HPLC. Współczynnik podziału wody (P_W) wyliczono oznaczając zawartość wody w eterze di-n-pentylowym metodą Karla Fischera. Współczynniki podziału estrów przyjęto arbitralnie na podstawie rozpuszczalności substancji o zbliżonej budowie chemicznej. Modelowanie prowadzono z użyciem programu komputerowego Mathematica.

3. Wyniki i dyskusja

Modelowanie reakcji estryfikacji katalizowanej przez lipazę polega na takim opisie matematycznym zjawiska, który w sposób możliwie prosty ujmuje wzajemne relacje pomiędzy składnikami układu dwufazowego, wywierającymi wpływ na wydajność syntezy. Prostota równania matematycznego w połączeniu z fizyczną wymiernością jego elementów (możliwie mała liczba współczynników nieokreślonych) pozwalają nie tylko znaleźć optymalne warunki procesu (np. rozpuszczalnik, substraty, rodzaj lipazy, temperaturę itp.), lecz także na podstawie właściwości fizykochemicznych poszczególnych składników modelu oraz ich wzajemnych oddziaływań, prognozować sposoby zwiększenia wydajności reakcji.

Optymalizację syntezy estrów wyższych kwasów tłuszczowych i alkoholi alifatycznych w układzie dwufazowym dla wybranych składników reakcji (substraty, lipaza, modyfikator warstwy wody niezbędnej enzymu) opisano w artykule [12], natomiast w pracy [10] przedstawiono model matematyczny tej syntezy, który zastosowano do symulacji wpływu pojedynczych składników modelu na wydajność reakcji. W zaproponowanym tam podziale składników modelu na wartości stałe i zmienne ujmowano jedynie ilościowy aspekt zagadnienia, natomiast nie zajmowano się charakterem zjawiska i wzajemnym oddziaływaniem jego poszczególnych elementów.

Obecnie rozwinięto model matematyczny oraz zweryfikowano go doświadczalnie dla syntezy estrów cukrowych. Składniki występujące w nowym modelu, wyszczególnione w tabeli 1, możemy podzielić na: **fizykochemiczne**, zależne od rodzaju rozpuszczalnika, substratów, produktów i temperatury, **katalityczne** — wyrażające wzajemne relacje lipazy ze składnikami fizykochemicznymi modelu ($K_O = F(A)$) oraz **ilościowe**, których wielkość w pewnych granicach można regulować (stężenie substratów, współczynnik stosunku objętościowego faz i stężenie wody).

Rozpuszczalnik organiczny wywiera zasadniczy wpływ na wielkość liczbowa większości składników modelu. Ich korekta w pożądanym kierunku może się odbywać poprzez zmianę solwentu, użycie mieszaniny rozpuszczalników [14] lub dodatek substancji modyfikujących warstwę wody niezbędnej lipazy, (ang. *essential enzyme-bound water*) [15].

Stosowane dotychczas metody badawcze nie umożliwiają pełnej symulacji omawianego procesu, a uzyskane wyniki cząstkowe są trudne do oszacowania ilościowego w kontekście aplikacji.

TABELA 1
SKŁADNIKI MODELU MATEMATYCZNEGO

Nazwa składnika	Symbol	Rodzaj	Uwagi
współczynnik podziału kwasu	P_{AC}	fizykochem.	stały
współczynnik podziału cukru	P_{AL}	fizykochem.	stały
współczynnik podziału wody	P_W	fizykochem.	stały
współczynnik podziału estru	P_E	fizykochem.	stały
współczynnik stosunku objętościowego faz	A	ilościowy	maleje podczas syntezy
stężenie wody w fazie organicznej	$[W_O]$	fizykochem.	stały
stężenie wody w fazie wodnej	$[W_W]$	ilościowy	regulowany, $55,55M \geq$
stężenie wody w warstwie wody niezbędnej lipazy	$[W_N]$	ilościowy	regulowany, $55,55M \geq$
objętość warstwy wody niezbędnej lipazy	V_N	katalit.	regulowany, trudny do oszacowania ilościowego
powstały ester równy wydzielonej wodzie	X	ilościowy	zależny od stężenia substratów i wydajności reakcji
stężenie substratów	S	ilościowy	regulowany
współczynniki równania $K_O = F(A)$, $K_O = bA^2 + cA + d$	b, c, d	katalit.	wypadkowa oddziaływania lipazy ze środowiskiem

Prowadząc estryfikację wyższych kwasów tłuszczowych pierwszorzędowymi alkoholami alifatycznymi, katalizowaną przez lipazę *M. circinelloides* stwierdzono, że dla wysokich stężeń wyjściowych substratów nie uzyskuje się wydajności reakcji wyższej niż 75% [13]. W przeprowadzonej następnie symulacji wpływu pojedynczych składników modelu na wydajność syntezy udowodniono możliwość tworzenia estrów z wydajnością 90-95%, co zostało potwierdzone doświadczalnie [10].

Obecne badania dotyczyły syntezy estrów cukrowych na wybranych dwóch modelach: kaprylanu i oleinianu sacharozy. Są one bardziej skomplikowane, gdyż teoretycznie do cząsteczki sacharozy możliwe jest wprowadzenie jednej lub kilku reszt acylowych. Ponieważ przyjęty model matematyczny opisuje syntezę estrów, w której substraty reagują w stosunku 1:1, reakcję prowadzono w eterze di-n-pentylowym, środowisko którego zapewniało (jak stwierdzono empirycznie) wprowadzenie tylko jednej cząsteczki kwasu do jednej cząsteczki sacharozy.

Wykonane próby syntezy w układzie o zaplanowanym zmiennym współczynnikiem stosunku objętościowego faz (A), umożliwiły wyznaczenie funkcji opisującej zmiany stałej równowagi reakcji w fazie organicznej (K_O) w zależności od współczynnika stosunku objętościowego faz $K_O = F(A)$ (tab. 2 i 3). Przeprowadzono także modelowe obliczenia przewidywanych wydajności reakcji (tab. 4).

Stwierdzono, że dla syntetyzowanych estrów występuje dobra zgodność danych doświadczalnych z modelowymi. Jedynie w przypadku kaprylanu sa-

charozy maksima wydajności zbadane i modelowe występują dla innych wartości współczynnika A. Wynika to prawdopodobnie z małej liczby punktów pomiarowych podczas wyznaczania zależności $K_O = F(A)$.

TABELA 2
SYNTEZA KAPRYLANU SACHAROZY KATALIZOWANA PRZEZ LIPAZĘ *M. circinelloides*

Współczynnik stosunku objętościowego faz (A)	Stała równowagi reakcji w fazie organicznej (K_O)	Stała równowagi układu dwufazowego (K_{DI})
3,31	5,37	255,91
8,18	6,6	104,48
19,15	7,21	61,88
44,59	12,39	48,86
81,16	10,45	26,05
322,58	6,42	7,41

TABELA 3
SYNTEZA OLEINIANU SACHAROZY KATALIZOWANA PRZEZ LIPAZĘ *M. circinelloides*

Współczynnik stosunku objętościowego faz (A)	Stała równowagi reakcji w fazie organicznej (K_O)	Stała równowagi układu dwufazowego (K_{DI})
2,48	2,89	225,76
3,12	3,82	185,88
9,8	5,72	95,06
19,10	9,63	80,97
44,36	12,33	48,03
80,13	14,61	35,97
223,8	13,44	25,34
282,97	15,41	17,64
409,16	13,16	13,16

TABELA 4
WYDAJNOŚĆ REAKCJI ESTRYFIKACJI W UKŁADZIE DWUFAZOWYM

Współczynnik stosunku objętościowego faz (A)	Kaprylan sacharozy		Oleinian sacharozy	
	wydajność reakcji (%)		wydajność reakcji (%)	
	wyliczona z modelu	empiryczna	wyliczona z modelu	empiryczna
8	64,45	61,25	64,04	56,88
24	65,77	68,40	65,22	65,26
44	67,54	67,80	67,00	67,78
283	66,26	65,39	71,95	70,47
322	61,25	63,63	—	—
409	—	—	67,91	68,65

Wartości składników modelu stosowane w obliczeniach:

Kaprylan sacharozy: $P_{AC} = 2000$, $P_{AL} = 0,00128$, $P_W = 0,00437$, $P_E = 0,0015$, $A =$ jak w tabeli 4, $[W_O] = 0,24289$, $[W_W] = 55,55$, $[W_N] = 55,55$, $V_N = 0,000001$, $b = -0,0003$, $c = 0,10094$, $d = 5,76527$.

Oleinian sacharozy: $P_{AC} = 3000$, $P_{AL} = 0,00128$, $P_W = 0,00437$, $P_E = 0,0015$, $A =$ jak w tabeli 4, $[W_O] = 0,24289$, $[W_W] = 55,55$, $[W_N] = 55,55$, $V_N = 0,000001$, $b = 0,00018$, $c = 0,089339$, $d = 5,655348$.

Przeprowadzono symulacje komputerowe jednoczesnego oddziaływania dwóch składników modelu na wydajność reakcji. W celu znalezienia oddziaływań dominujących, w badaniach symulacyjnych stosowano wszystkie możliwe kombinacje składników fizykochemicznych i ilościowych zawartych w nowym modelu. Miały one odpowiedzieć na pytania:

1. Które składniki modelu wywierają znaczący wpływ na wydajność syntezy estrów cukrowych?

2. Czy jest możliwa korekta składników modelu zapewniająca wzrost wydajności syntezy do 90%?

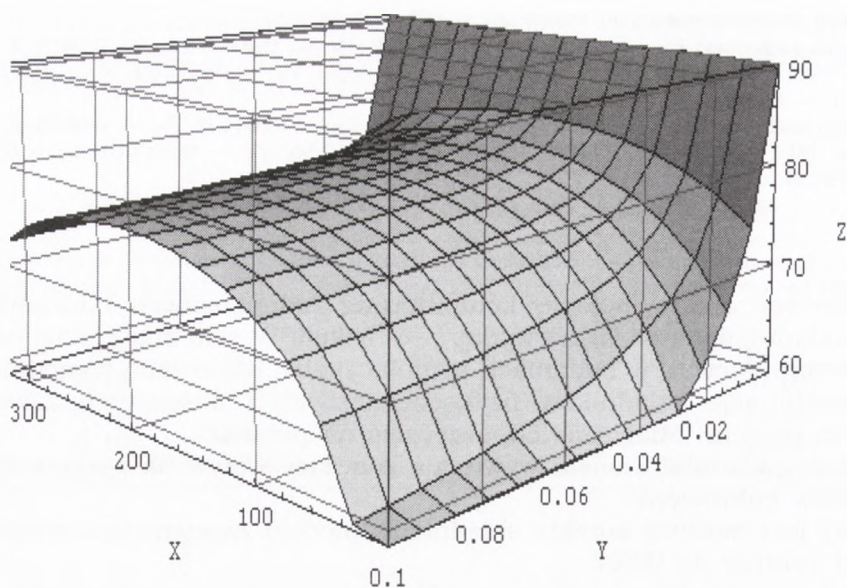
Symulacje wydajności reakcji estryfikacji prowadzono wykreślając w przestrzeni trójwymiarowej jej przewidywane wartości w funkcjach zmian dwóch wybranych składników modelu. Granice zmian składników przyjęto arbitralnie w zakresie wartości fizycznie realnych.

Na rysunku 2 przedstawiono zależność wydajności syntezy kaprylanu sacharozy w funkcji: współczynnika stosunku objętościowego faz A i współczynnika podziału estru P_E . Stwierdzono, że dla każdej wartości P_E z badanego zakresu występuje maksimum wydajności syntezy. Wielkości współczynników A, dla których zaobserwowano maksimum, zmieniają się wraz ze wzrostem współczynnika podziału estru (P_E) współczynnik A, dla którego stwierdzano maksimum, także ulegał zwiększeniu. Przykładowo dla $A = 150$ i $P_E = 0,0015$ przewidywana wydajność wynosiła 70,87%. Wydajność tworzenia estru wzrastała wraz z obniżaniem się wartości P_E . Dla oleinianu sacharozy omawiana zależność miała podobny charakter. Dla $A = 230$ i $P_E = 0,0015$ przewidywana wydajność estryfikacji wynosiła 72,27%.

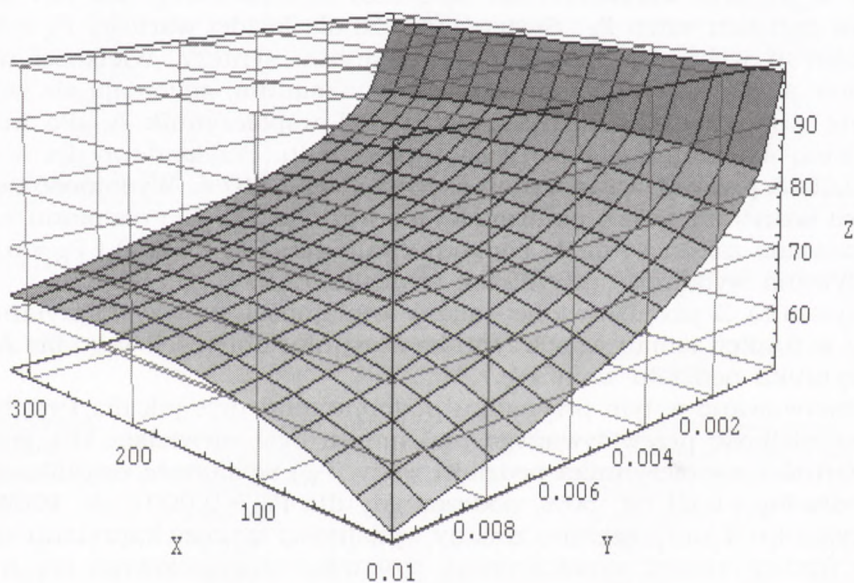
Na rysunku 3 przedstawiono zmiany wydajności syntezy kaprylanu sacharozy w funkcji zmian współczynnika stosunku objętościowego faz A oraz współczynnika podziału wody P_W .

Zaobserwowano w tym przypadku podobne tendencje jak dla P_E , chociaż liczbowo wielkość przewidywanego maksimum była niewielka. Dla granicznych wartości współczynnika podziału wody (P_W) wydajność estryfikacji wyniosła: dla $P_W = 0,01$ ok. 50%, podczas gdy dla $P_W = 0,0001$ ok. 100%.

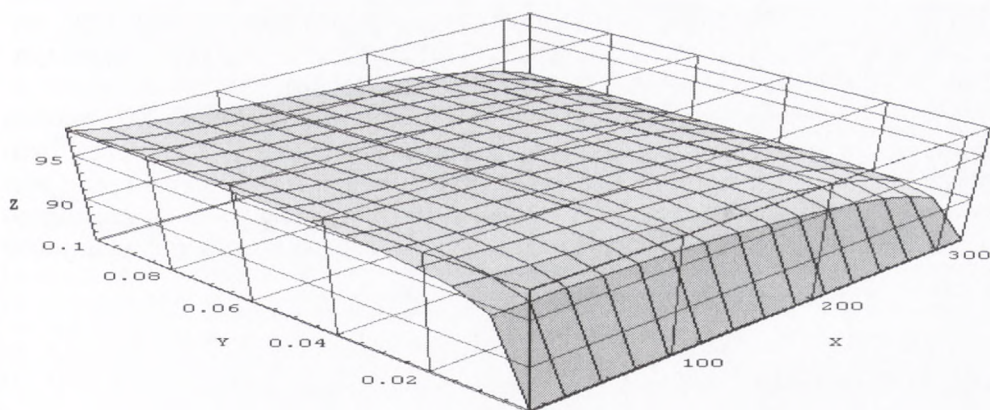
Na rysunku 4 zamieszczono zmiany wydajności syntezy kaprylanu sacharozy w funkcji zmian współczynnika stosunku objętościowego faz A oraz współczynnika podziału cukru P_{AL} . Przewidywana wydajność syntezy wzrastała monotonicznie wraz ze zmniejszaniem się współczynnika stosunku objętościowego faz (A) i dla wartości P_{AL} większej od 0,02 nie powodowała wyraźnego wzrostu wydajności reakcji.



Rys. 2. Zależność przewidywanej wydajności reakcji estryfikacji od zmian współczynnika stosunku objętościowego faz A oraz współczynnika podziału estru P_E dla syntezy kaprylanu sacharozy. Oś Z — wydajność estryfikacji (%), oś X — współczynnik stosunku objętościowego faz A (10-322), oś Y — współczynnika podziału estru P_E (0,00001-0,1).



Rys. 3. Zależność przewidywanej wydajności reakcji estryfikacji od zmian współczynnika stosunku objętościowego faz A oraz współczynnika podziału wody P_w dla syntezy kaprylanu sacharozy. Oś Z — wydajność estryfikacji (%), oś X — współczynnik stosunku objętościowego faz A (10-322), oś Y — współczynnika podziału wody P_w (0,00001-0,01).



Rys. 4. Zależność przewidywanej wydajności reakcji estryfikacji od zmian współczynnika stosunku objętościowego faz A oraz współczynnika podziału alkoholu dla syntezy kaprylanu sacharozy. Oś Z — wydajność estryfikacji (%), oś X — współczynnik stosunku objętościowego faz A (10-322), oś Y — współczynnik podziału cukru P_{AL} (0,00001-0,1).

W wyniku przeprowadzonych symulacji komputerowych stwierdzono, że znaczący wpływ na wydajność reakcji syntezy estrów cukrowych wywierają przede wszystkim współczynnik podziału estru (P_E), współczynnik podziału wody (P_W) oraz współczynnik stosunku objętościowego faz (A), natomiast w mniejszym stopniu stężenie wody w warstwie wodnej (W_W) i współczynnik podziału alkoholu (P_{AL}).

Interesujące jest porównanie oddziaływania poszczególnych składników modelu na wydajność syntezy estrów cukrowych i estrów alkoholi alifatycznych. W przypadku syntezy estrów alkoholi alifatycznych i wyższych kwasów tłuszczowych działania prowadzące do wzrostu wydajności reakcji sprowadzały się do: obniżenia współczynnika podziału wody (P_W), zwiększenia wartości stałej równowagi układu dwufazowego (K_{DJ}) i współczynnika stosunku objętościowego faz (A), a w mniejszym zakresie obniżenia stężenia wody w warstwie wodnej (W_W) [10]. Dla syntezy estrów cukrowych współczynnik podziału wody (P_W) oraz stężenie wody w warstwie wodnej (W_W) wywierają podobny wpływ na wydajność reakcji jak przy syntezie estrów alkoholi alifatycznych. Podobnie podwyższenie stałej (K_{DJ}) poprzez obniżenie współczynnika podziału estru (P_E) i zwiększanie współczynników podziału alkoholu (P_{AL}) prowadzi w obu przypadkach do wzrostu wydajności, chociaż zakres zmian w każdym przypadku jest różny i uzależniony od rzeczywistej wartości liczbowej składników modelu. To co różni w sposób zdecydowany syntezy estrów alkoholi

alifatycznych i cukrowych to wpływ współczynnika stosunku objętościowego faz (A) na wydajność estryfikacji. Dla estrów alkoholi alifatycznych zwiększenie współczynnika A (zmniejszenie fazy wodnej) prowadzi we wszystkich badanych przypadkach do wzrostu przewidywanej wydajności reakcji [10], natomiast dla estrów cukrowych obserwuje się optymalną wartość współczynnika A, dla którego wydajność syntezy jest największa.

Wzrost wydajności syntezy estrów cukrowych do poziomu 90% można osiągnąć poprzez zmniejszenie współczynników P_E , P_W i W_W z jednoczesnym zwiększeniem współczynnika P_{AL} , przy czym dla $P_{AL} \geq 0,005$ następuje wyraźny wzrost wydajności reakcji. Współczynnik podziału kwasu tłuszczowego ma na tyle dużą wartość, że jego zwiększenie nie wpływało na wydajność syntezy.

4. Podsumowanie

Wyprowadzony model matematyczny enzymatycznej syntezy estrów sacharydów w środowisku dwufazowym: eter di-n-pentylowy — woda uwzględnia wzajemne oddziaływanie składników **fizykochemicznych**, zależnych od: rozpuszczalnika, substratów, produktów i temperatury, składników **katalitycznych**, wyrażających wzajemne relacje lipazy ze składnikami **fizykochemicznymi** modelu ($K_O = F(A)$) oraz **ilościowych**, których wielkość w pewnych granicach można regulować podczas reakcji (stężenie substratów i współczynnik stosunku objętościowego faz i stężenie wody). Model ten zastosowany do symulacji procesu w przestrzeni trójwymiarowej umożliwia nie tylko prognozowanie wydajności reakcji w stanie poststacjonarnym, lecz także określenie wagi wpływu poszczególnych składników na przewidywaną wydajność reakcji.

Prowadząc symulacje zmian wydajności syntezy w funkcji dwóch składników modelu stwierdzono, że największy wpływ na wydajność reakcji syntezy estrów cukrowych wywierają: współczynnik podziału estru (P_E), współczynnik podziału wody (P_W) i współczynnik stosunku objętościowego faz (A). W mniejszym stopniu ilość tworzonego estru jest uzależniona od stężenia wody w warstwie wodnej (W_W) i współczynnika podziału sacharydu (P_{AL}).

Model ten został zweryfikowany doświadczalnie w reakcjach syntezy kaprylanu i oleinianu sacharozy. Stwierdzono dobrą korelację wyników uzyskanych doświadczalnie i obliczonych na podstawie modelu. Dla kaprylanu sacharozy uzyskana empirycznie maksymalna wydajność reakcji estryfikacji równała się 67,5% dla $A=44$, podczas gdy wydajność wyliczona z modelu wynosiła 67,8% dla $A=44$. Podobnie jak dla oleinianu sacharozy obydwie wartości były zbliżone i wynosiły: empiryczna 71,95%, wyliczona z modelu 70,47% dla $A=283$.

Literatura

1. Shibatani S., Kitagawa M., Tokiwa Y., (1997), *Biotechnology Letters*, 19, 511-514.
2. Skagerlind P., Larsson K., Barfoed M., Hult K., (1997), *JAOCS*, 74, 39-42.
3. Mutua L. N., Akoh C. C., (1993), *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 70, 43-46.
4. Arcos J. A., Bernabe M., Otero C., (1998), *Biotech. Bioeng.*, 57, 505-509.
5. Martinek K., Semenov A. N., Berezin I. V., (1981), *Biochim. Biophys. Acta*, 658, 76-89.
6. Martinek K., Semenov A. N., (1981), *J. Appl. Biochem.*, 3, 93-98.
7. Semenov A. N., Khmel'nitski Yu. L., Berezin I. V., Martinek K., (1987), *Biocatalysis*, 1, 3-8.
8. Semenov A. N., (1994), *Prikl. Bioch. Mikrob.*, 30, 302-310.
9. Antczak T., Konstanynowicz A., Galas E., (1989), V Scientific Symposium of Socialist Countries on Biotechnology, Hungary, Abstracts volume II, 185-186.
10. Antczak T., Galas E., (1997), *Biotechnologia*, 3(38), 121-133.
11. Galas E., Antczak T., Krystynowicz A., Patent 150601.
12. Antczak T., Krystynowicz A., Galas E., (1995), *Biotechnologia*, 2(29), 82-91.
13. Antczak T., Krystynowicz A., Galas E., (1995), *Biotechnologia*, 2(29), 73-81.
14. Antczak U., Góra J., Antczak T., Galas E., (1991), *Enzyme. Microb. Technol.*, 13, 589-593.
15. Antczak T., Hiler D., Galas E., (1993), *Biotechnologia*, 1(20), 59-67.

Mathematical modelling of sugar esters synthesis catalyzed by *Mucor circinelloides* lipase in non water environment

Summary

A mathematical model describing sucrose esters synthesis in biphasic di-n-phentyl ether — water system by lipase from *Mucor circinelloides* has been elaborated. This model considers correlation between physicochemical factors, dependent on the solvent, substrates, products and temperature, catalytic factors corresponding to the relationship between lipase and the physicochemical factors of the model ($K_o=F(A)$), as well quantitative factors whose values may be regulated during the reaction (substrate concentration, phase volume coefficient (A) and water concentration).

This model was confirmed by syntheses of caprylic and oleic sucrose esters. The maximum reaction yield for the synthesis of caprylic sucrose ester calculated on the basis of the elaborated model was 67,5% and experimental value was 67,8% for $A = 44$. For oleic sucrose ester, the theoretical and experimental yields of synthesis, were 71,9% and 70,5% respectively.

Using this model it is possible to estimate the maximum achievable (in particular conditions) yield of the ester synthesis. It can also be applied for simulations enabling evaluation of the effect of the particular factors on the yield of ester synthesis and resulting optimisation of selected factors in the reaction system.

The simulations were performed for two factors of the model in three dimensional space. It was found that the ester synthesis was mostly affected by the following invariable factors: partition coefficients of products (P_E , P_W) and phase volume coefficient (A). The concentration of water in the water phase and the partition coefficients of sugar (P_{Al}) influenced the yield to a smaller extent.

Key words:

lipase, biphasic system, sugar ester synthesis, mathematical modelling, sucrose esters.

Adres do korespondencji:

Tadeusz Antczak, Instytut Biochemii Technicznej, Politechnika Łódzka, ul. Stefanowskiego 4/10, 90-924 Łódź.